Quantitativer Nachweis von Chloramphenicol im Blutserum, Ei und Galle beim Huhn

Peter Jäger

1972

Aus dem Tiergesundheitsdienst Bayern
Fachabteilung Geflügelgesundheitsdienst und Pelztiere
Tierärztliche Leitung: Priv.Doz.Dr.P.Dorn

Quantitativer Nachweis von Chloramphenicol im Blutserum, Ei und Galle beim Huhn

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Peter Jäger
aus
München

München 1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. Boessneck
Referent: Priv.Doz. Dr. P. Dorn
Korreferent: Prof. Dr. I. Gylstorff

Tag der Promotion: 11. 2. 1972

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Literatur	3
	a) Geschichtliches	3
	b) Physikalisch-chemische Eigenschaften	4
	c) Wirkungsspektrum	5
	d) Wirkungsmechanismus	7
	e) Resorption und Ausscheidung	8
	f) Toxizität	10
	g) Blutspiegel	12
III.	Eigene Untersuchungen	15
	1. Material und Methode	15
	a) Herstellung und Vorbereitung des Agarmediums	15
	b) Herstellung der Keimsuspension	16
	c) Herstellung der Standardlösungen	16
	d) Tiermaterial	18
	e) Chloramphenicol	18
	2. Ergebnisse	19
	Versuchsreihe 1 (mit Legehennen)	20
	a) Serumspiegel nach Verabreichung von Chloramphenicol als orale Einzelgabe mit Sonde	20
	b) Serumspiegel nach Verabreichung von Chloramphenicol über das Trinkwasser über 24 Stunden bei freier Wasseraufnahme	21

c) Der Nachweis von Chloramphenicol im Ei nach Trinkwasserbehandlung bzw. nach oraler Einzelgabe bei Legehennen 23

Versuchsreihe 2 (mit Küken und Hähnchen) 24

a) Serumspiegel nach oraler Verabreichung über das Trinkwasser bei freier Wasseraufnahme 24

b) Serumspiegel nach intramuskulärer Injektion 27

c) Der Nachweis von Chloramphenicol in der Galle nach Trinkwasserbehandlung bzw. nach intramuskulärer Injektion 29

IV. Diskussion 34

V. Zusammenfassung 39

VI. Literaturverzeichnis 41

I. EINLEITUNG

Die Massentierhaltung in der Geflügelwirtschaft hat dazu geführt, daß bei Erkrankungen die Behandlung des Einzeltieres aus wirtschaftlichen Gründen in den Hintergrund getreten ist. Die Medikamente werden in immer größerem Umfange über das Futter oder das Trinkwasser den Tieren zugeführt. Voraussetzung für therapeutische Erfolge ist jedoch, daß bei der Behandlung über das Futter oder Wasser therapeutisch wirksame Blut- und Gewebespiegel erreicht und über ausreichend lange Zeit erhalten werden können.

Chloramphenicol war das erste sog. Breitspektrum- Antibiotikum. Im Gegensatz zu Penicillin bzw. Streptomycin, die sich wirkungsmäßig nur gegen bestimmte Gruppen von Mikroorganismen richten, sprechen viele gegen Penicillin bzw. Streptomycin primär resistente Keime auf Chloramphenicol an.

Wie aus der Literatur ersichtlich ist, variieren die Dosierungsempfehlungen erheblich. Dies gilt insbesondere für orale Gaben, die in der Geflügelpraxis eine ausschlaggebende Rolle spielen. Es stellt sich somit die Frage, ob bei der vom Hersteller angegebenen Dosierung über das Trinkwasser wirksame Blutspiegel erreicht werden können.

Mir wurde deshalb die Aufgabe gestellt, zu prüfen, bei welcher Dosierung therapeutisch wirksame Blutspiegel beim Geflügel erreichbar sind. Da der Nachweis von Anti-

biotikarückständen in Lebensmitteln immer mehr an Bedeutung gewinnt, wurde bei Legehennen zusätzlich die Ausscheidung von Chloramphenicol in das Ei überprüft. Außerdem sollten die Chloramphenicolkonzentrationen in der Galle bestimmt werden.

II. LITERATUR

a) Geschichtliches

1947 fand BURKHOLDER, daß ein Actinomycetenstamm, der aus einer Erdprobe aus Caracas, Venezuela, stammte, sowohl gegen grampositive als auch gramnegative Keime hemmend wirkte. Dieser Mikroorganismus erhielt später den Namen Streptomyces venecuelae. Von den Kulturfiltraten dieses Pilzes wurde von den Chemikern der Firma Parke-Davis & Co. (ERHLICH, 1947) in Zusammenarbeit mit BURKHOLDER ein kristallines Antibiotikum "Chloromycetin" (Chloramphenicol) isoliert und dessen physikalische und antibakteriellen Eigenschaften sowie die in-vivo-Aktivität untersucht. Neben EHRLICH und Mitarbeitern (1947) fand im selben Jahre die Forschergruppe SMADEL et al. eine gute Wirkung dieses neuen Antibiotikum bei Rickettsieninfektionen von Tieren. Über das ungewöhnlich breite antimikrobielle Spektrum und hierdurch bedingte breitere Wirksamkeit, die niedrige Toxizität, die gute Resorption im Magen-Darm-Trakt und die große Stabilitat dieses Breitbandantibiotikums wurde 1948 ausführlich berichtet (SMADEL und JACKSON). Chloramphenicol ist das erste und, wenn man von weniger bedeutenden Antibiotika absieht, das bisher einzige vollsynthetische Antibiotikum. Es kam im März 1948, wenige Monate nach Erscheinen des Chlortetracyclin, auf den Markt.

b) Physikalisch-chemische Eigenschaften

Chloramphenicol ist in seiner Strukturformel eine verhältnismäßig einfache, optisch aktive, linksdrehende Verbindung, D(-)-threo-2-dichloracetamido-1-p-nitrophenyl-1,3-propandiol. Es handelt sich um eine neutrale, weiße, kristalline Substanz von bitterem Geschmack. Der Schmelzpunkt liegt bei 150°C. Seine Löslichkeit in Wasser ist gering (2,5 mg/ml bei 25°C), besser löslich ist es in Äther und Alkohol (1 : 2,5) und in Propylenglycol (1 : 7). In kristalliner Form ist Chloramphenicol praktisch unbegrenzt haltbar. Die Trockensubstanz ist vor Licht, Luft und Feuchtigkeit geschützt aufzubewahren.

Der pH-Wert einer gesättigten Lösung liegt zwischen 4,5 und 7,5. Chloramphenicol darf nicht höher als bei einer Temperatur von 150°C sterilisiert werden. Bei dreistündiger Erhitzung auf 102°C wird seine Wirksamkeit nicht beeinträchtigt. Gesättigte Lösungen und Lösungen in Propylenglycol können autoklaviert werden (WOODARD, 1952). Wässrige Chloramphenicollösungen zwischen pH 2 und 6 können eine Stunde ohne wesentlichen Wirkungsverlust gekocht werden; beim Autoklavieren ungesättigter Chloramphenicollösungen aber treten größere Wirkungseinbußen auf. Ungepufferte, wässrige Chloramphenicollösungen verlieren nach einer 200 Tage langen Lagerung bei 20 - 22°C durch Hydrolyse die Hälfte ihrer Wirksamkeit, während in Borax gepufferte Lösungen (pH 4) unter den selben Bedingungen nur 14 % Wirksamkeit verlieren.

Bei 15 Minuten langem Erhitzen auf 100°C wurde eine 3 %ige Aktivitätsminderung der boraxgepufferten Chloramphenicollösung beobachtet.

c) Wirkungsspektrum

Mikroorganismen, die bei einer Konzentration bis 5 mcg Chloramphenicol pro ml in vitro in ihrem Wachstum gehemmt werden, gelten als empfindlich; liegt die Hemmdosis zwischen 5 und 25 mcg/ml, so spricht man in der Humanmedizin von mäßig empfindlich, ist die Hemmdosis größer als 25 mcg pro ml, so gelten die Keime als resistent. Chloramphenicol ist in vitro wirksam gegenüber einer großen Anzahl von gramnegativen Bakterien, wie Brucellen, Escherichien, Klebsiellen, Salmonellen, Shigellen und Proteusarten, sowie gegenüber Rickettsien und dem Psittacosiserreger, aber auch gegenüber grampositiven Mikroorganismen, wie Mikrokokken, Streptokokken u.a. (EHRLICH et al.,1947). Die antibiotische Wirkung des Chloramphenicol gegenüber grampositiven Kokken und Bakterien sowie gegen Spirochäten steht allerdings deutlich hinter der Wirkung des Penicillins zurück.
Hervorzuheben ist die Wirkung des Chloramphenicols gegenüber Mikroorganismen der Salmonellagruppe (Salmonella paratyphi A und B, S. typhimurium, S. typhi, S. enteritidis). Obwohl andere Antibiotika (z.B. Tetracycline) eine z.T. bessere in-vitro- Wirksamkeit aufweisen, ist das Chloramphenicol bei der Bekämpfung der Salmonellen und der durch diese hervorgerufenen Enteritiden

das Mittel der Wahl (KIRSNER, et al., 1952). Zu den Chloramphenicol-primär-resistenten Mikroorganismen gehören Pseudomonasarten, Mycobakterien sowie Leptospiren; unbeeinflußt bleiben ferner Hefen, Pilze und Protozoen. So wie auch bei anderen Antibiotika, lassen sich die in-vitro-Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die in-vivo-Verhältnisse übertragen. Ob die Erhöhung der Virulenz als Folge der Resistenzausbildung, wie man sie z.B. bei Escherichia coli feststellen konnte, klinische Bedeutung hat, konnte noch nicht einwandfrei erwiesen werden (VOUREKA, 1951; PULVERTAFT, 1952).

Das Chloramphenicol neigt wenig dazu, sekundäre Resistenzerscheinungen auszubilden. Wenn solche auftreten, entwickeln sie sich allmählich, ähnlich wie beim Penicillin (WRIGHT, et al., 1953). Bei in-vitro-Versuchen konnten dieselben Autoren feststellen, daß gramnegative Mikroorganismen häufiger resistente Varianten bilden als grampositive Keime.

Klinisch hat die sekundäre Chloramphenicolresistenz nach JAWETZ (1952) praktisch keine Bedeutung. Kombiniert man Chloramphenicol mit anderen Antibiotika, so können Antagonismus, Indifferenz, additive bzw. synergistische Wirkung eintreten. Dies ist nicht nur abhängig von der Art des Keimes, sondern variiert auch bei den verschiedenen Antibiotika, ihrer Dosierung und ihren Dosierungsverhältnissen.

d) Wirkungsmechanismus

Die sehr genau studierte Wirkung des Chloramphenicols beruht auf einer vollständigen Hemmung der Proteinsynthese des empfindlichen Mikroorganismus bei relativ geringen Konzentrationen. Dies konnten GALE und FOLKES (1953) sowohl durch Bestimmung der Glutaminsäure in Proteinhydrolysaten als auch mit Hilfe der Bestimmung des Einbaues radioaktiv markierter Glutaminsäure in bestimmte Proteinfraktionen bei sich nicht vermehrendem Mikrokokkus pyogenes nachweisen. Diese Unterdrückung der Proteinsynthese wurde von mehreren Autoren mit den verschiedensten Methoden für eine Anzahl von Keimen nachgewiesen. Trotzdem laufen andere biosynthetische Prozesse weiter, vor allem die in diesem Zusammenhang wichtige Synthese von Nukleinsäure (WISSEMAN et al., 1953), obgleich die beschriebene Hemmung der Proteinsynthese unmittelbar nach Zusatz von Chloramphenicol einsetzt. An Staphylokokken versuchten GALE et al. (1960) die Verhältnisse an bestimmten Teilprozessen des Proteinstoffwechsels zu klären. Bei diesen Versuchen wurde die Bildung extrazellulärer Peptide ebenso wie die Ansammlung freier Glutaminsäure nicht gehemmt, während der Einbau radioaktiver Aminosäuren in die Proteine von Zellen nur wenig von Chloramphenicol beeinflußt wurde. HAHN et al. (1955) versuchten durch das Studium einer Reihe von Strukturanalogen des Chloramphenicols

der Lösung des Problems näher zu kommen. Sie fanden keinen strukturanalogen Metaboliten, den man als Antagonisten des Chloramphenicols bezeichnen könnte. Sie konnten von anderen Autoren festgestellte Antagonismen auf Grund struktureller Beziehungen zu Phenylalanin, Tryptophan, D-Serin oder zu Dipeptiden nicht bestätigen. SWENDSEID et al. (1952) nehmen an, daß Chloramphenicol als Antagonist gegenüber einem bis jetzt noch unbekannten Cofaktor wirkt, der für die Proteinsynthese und somit für das Wachstum notwendig ist.
Die Proteinsynthese ist allen lebenden Zellen eigen. Wenn Chloramphenicol trotz nachweisbarer Hemmung dieses lebenswichtigen Prozesses nicht bei Hefen, Pilzen und Protozoen wirksam ist, kann dies nur damit erklärt werden, daß diese Zellen Membranverhältnisse besitzen, die ein Eindringen des Antibiotikums unmöglich machen.

e) Resorption und Ausscheidung

Chloramphenicol ist ein sehr stabiles, heute fast ausschließlich synthetisch hergestelltes Antibiotikum, das sowohl wegen seiner Stabilität als auch wegen der Kleinheit seines Moleküls sehr gut bei oraler Applikation im oberen Teil des Gastrointestinaltraktes resorbiert wird. Auch die intravenöse bzw. intramuskuläre Verabfolgung ist möglich, jedoch ist der Resorptionseffekt nach BURNELL und KIRBY (1951) nicht besser als bei oraler Applikation. Im allgemeinen wird angenommen, daß die Chlor-

amphenicolester im Magen-Darm-Trakt durch körpereigene Enzyme gespalten werden und freies Chloramphenicol zur Resorption kommt. CONCILIO und TRIVELLATO (1958) fanden beim Kaninchen bei intramuskulärer Applikation mit dem wasserlöslichen Glycinester höhere Spiegel als mit Chloramphenicol allein, während MARINO (1958) für das ebenfalls wasserlösliche Succinat eine beträchtliche Latenzzeit in der Resorption und geringere pharmakologische und biologische Wirkung fand. Die Resorption des Chloramphenicols erfolgt sehr schnell. Das Maximum der Blutspiegel wird in etwa zwei Stunden erreicht, und es erfolgt dann ein allmählicher Abfall in einigen Stunden. Es besteht eine ausgesprochene Dosis-Resorptionsabhängigkeit. Die Bindung im Blut erfolgt vorzugsweise an das Albumin und ist reversibel. Nach SMITH (1948) werden etwa 60 % des Chloramphenicols an Eiweiß gebunden. Die Abgabe an das Gewebe erfolgt sehr schnell, dabei wurden die höchsten Konzentrationen in der Leber und in der Niere, die niedrigsten im Gehirn und im Liquor cerebrospinalis gefunden. Beim Menschen hat GRAY (1955) das Antibiotikum in Lunge, Herz, Leber, Niere, Milz, Gehirn und Darm nachgewiesen und eine Reihe von Autoren fanden es im Liquor sowohl bei normalen als auch bei entzündeten Meningen. Hier erfolgt die Diffusion etwas langsamer als in die übrigen Gewebe, jedoch ist es nach 2 - 3 Stunden nachweisbar, die Maximalkonzentration wird in 4 - 5 Stunden erreicht. Nach ROY et al. (1952) ist, um mit Sicherheit

Chloramphenicol im Liquor zu finden, eine Dosis notwendig, die mehr als 10 mcg/ml Serum ergibt. Durch die Plazenta tritt das Antibiotikum leicht in den fetalen Kreislauf ein. 30 - 80 % der Konzentration des mütterlichen Blutes konnten im fetalen Kreislauf nachgewiesen werden, dabei kam es nicht zu toxischen Erscheinungen. WILLIAMS und DART (1950) wiesen es sowohl in der Pleura als in der Aszitesflüssigkeit nach. Auch die Penetration in alle Teile des Auges erfolgt leicht. BENDER et al. (1953) fanden eine Ausscheidung in den Speichel. Die Ausscheidung des Chloramphenicols geschieht hauptsächlich durch die Niere, zu einem Teil in aktiver, zum anderen in inaktiver bzw. gekoppelter Form. Eine therapeutisch noch wirksame Menge wird in die Galle ausgeschieden. So fanden z.B. WOODWARD et al.(1950) beim Menschen nach oralen Gaben Spitzenwerte von 30 mcg/ml bei einem entsprechendem Serumwert von 80 mcg/ml.

f) Toxizität

Chloramphenicol ist ein Antibiotikum mit bemerkenswert geringer Toxizität. Viele Autoren führen aus, daß das Chloramphenicol trotz seiner Nitrophenylgruppierung in seiner Strukturformel kaum zu toxischen Reaktionen Anlaß gibt. Die akute Toxizität des Chloramphenicols wurde bei den verschiedensten Tierarten überprüft. Chloramphenicol wird im Gegensatz zu den Tetracyclinen, die häufig schwerere Diarrhoen verursachen, im Duodenum nahezu vollständig resorbiert. Dies ist auch die Ursache,

daß Veränderungen der physiologischen Darmflora nach oraler Verabreichung von Chloramphenicol im Vergleich zu den Tetracyclinen weniger schwerwiegend sind (FINLAND und WEINSTEIN, 1953).

Chloramphenicol kann wie alle Antibiotika eine Antigen-Antikörperreaktion auslösen und somit alle Formen einer Allergie verursachen. Allerdings sind allergische Reaktionen verhältnismäßig selten und haben meistens eine leichte Verlaufsform. Prozentual treten solche Reaktionen wesentlich seltener auf als z.B. nach Penicillin oder Streptomycin.

Chloramphenicol enthält eine aromatische Nitrogruppe, die zu Knochenmarksveränderungen Anlaß geben könnte. Es ist daher nicht verwunderlich, daß RICH et al., GILL, 1950) bei den ersten Untersuchungen derartigen toxischen Reaktionen besondere Aufmerksamkeit schenkten. Als dann verschiedene Autoren pathologische Veränderungen des Blutbildes wie aplastische Anämien, Thrombozytopenie, Granulozytopenie und Panzytopenie beobachteten, wurden diese Erscheinungen auf die Nitrophenylgruppe des Chloramphenicol zurückgeführt (RICH et al. und GILL, 1950). Als Folge wurde dieses wertvolle Antibiotikum nur noch zögernd verwendet. Jeder Fall von Blutdyskrasie wurde eingehend studiert. Es wurde festgestellt, daß Blutdyskrasien bei Adulten nicht häufiger nach Verabreichung von Chloramphenicol auftreten als nach Gabe von anderen Medikamenten (LEWIS et al., 1952). Neuere Arbeiten, die sich auf

eine große Anzahl von Patienten beziehen, verneinen wiederum den Zusammenhang von Veränderungen des Blutbildes durch Chloramphenicol (PAYNE et al., 1956/57). Blutuntersuchungen bei Hühnern (FEIERSINGER, 1955) ergaben sowohl vor Dauerblutspiegel-Versuchen als auch nachher keine krankhaften Veränderungen im Blutbild. REUTNER und Mitarbeiter (1955) haben Hunden zwei Jahre lang Dosen von täglich 90 mg Chloramphenicol pro kg Körpergewicht eingegeben, ohne daß Blutbildveränderungen, wie sie beim Menschen nach Chloramphenicolgaben bekannt geworden sind, festzustellen waren. KRAFT (1962) berichtet, daß Hunde über mehrere Monate die tägliche orale Verabreichung von 200 - 300 mg Chloramphenicol pro kg Körpergewicht vertrugen, ohne daß Störungen der Leber, der Niere, des Nervensystems, der Blutbildung oder des Kreislaufes beobachtet werden konnten. VAN LOOVEREN (1958) weist zusammenfassend darauf hin, daß Chloramphenicol im Vergleich zu anderen Breitbandantibiotika selten gastrointestinale Nebenerscheinungen hervorruft. Oral verabreichte Dosen werden zu etwa 90 % resorbiert. Bei therapeutischen Gaben sind von ihm keine Blutbildveränderungen nachgewiesen worden.

g) Blutspiegel

Bei der vergleichenden Betrachtung der von den einzelnen Autoren gefundenen Chloramphenicolblutspiegel fallen die z.T. sehr großen Unterschiede der maximalen An-

fangskonzentrationen auf, während die Dauer der Blutspiegel bei gleicher Dosierung und Applikationsart annähernd übereinstimmt. Es kann wohl angenommen werden, daß diese Differenzen auf Unterschiede der verwendeten Chloramphenicolpräparate, auf ein nicht homogenes Tiermaterial und vor allem auf unterschiedliche Bestimmungsmethoden zurückzuführen sind.

Mit der Prüfung des Chloramphenicolspiegels nach peroralen Gaben haben sich STETTNER und FEIERSINGER (1955) eingehend beschäftigt. STETTNER hat in insgesamt 16 Versuchen an vier Schweinen und 28 Versuchen an zehn Hunden nach verschieden hohen Chloramphenicolgaben die Blutspiegelwerte ermittelt. Die durchschnittliche therapeutisch wirksame Blutkonzentration war beim Schwein bei 50 mg/kg Körpergewicht 10 Stunden lang (Höchstwerte von durchschnittlich 2 mcg/ml Serum), bei 100 mg/kg Körpergewicht 9 1/2 Stunden lang (Spitzenwerte von 16 mcg/ml Serum) und bei 200 mg/kg Körpergewicht 15 Stunden lang (Höchstwerte von 36 mcg/ml Serum) feststellbar. Beim Hund war die durchschnittliche therapeutisch wirksame Konzentration bei 25 mg/kg Körpergewicht 6 1/2 Stunden lang (Spiegelhöchstwerte etwa 14 mcg/ml Serum) und 50 mg/kg Körpergewicht 9 Stunden lang (Höchstwerte von 44 mcg/ml Serum) festzustellen. Unerwünschte Nebenerscheinungen wurden durch diese Dosierungen nicht ausgelöst.

FEIERSINGER (1955) hat sieben Versuche an Pferden und 16 Versuche an Hühnern durchgeführt und dabei feststel-

len können, daß beim Pferd durch die perorale Verabreichung von 50 mg Chloramphenicol pro kg Körpergewicht als Schüttelmixtur, mit der Nasenschlundsonde eingegeben, eine therapeutisch wirksame Serumkonzentration von etwa vier Stunden Dauer erzielt wird. Die Spiegelhöchstwerte betrugen durchschnittlich 8 mcg/ ml Serum. Wurde Chloramphenicol als Bolus verabreicht, war die therapeutisch wirksame Serumkonzentration nur zwei Stunden lang nachweisbar, wobei die Spiegelhöchstwerte etwa 6 mcg/ml Serum erreichten.

Beim Huhn wurden von FEIERSINGER folgende Durchschnittswerte ermittelt:

50 mg/kg KG: therapeutisch wirksame Serumkonzentrationen 6 1/2 Stunden (Spiegelhöchstwerte 7 mcg/ml Serum).

100 mg/kg KG: therapeutisch wirksame Serumkonzentrationen 12 Stunden lang (mittlerer Höchstwert 34 mcg/ml Serum),

200 mg/kg KG: therapeutisch wirksame Serumkonzentrationen 15 1/2 Stunden (mittlerer Höchstwert 56 mcg/ ml Serum).

Das Chloramphenicol wurde in Gelatinekapseln verabreicht. Ein Versuch über 74 Stunden ergab, daß mit einer Dosierung von 100 mg/kg KG, alle 12 Stunden verabreicht, ein kontinuierlicher Serumspiegel erreichbar war. Dabei sank die Chloramphenicolkonzentration nie unter 4 mcg/ml Serum. Die Chloramphenicolgaben wurden von den Tieren reaktionslos vertragen.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Zum Nachweis des Chloramphenicol wurde ein biologisches Bestimmungsverfahren benutzt. Der Agar-Lochtest wurde vorgezogen, da sich dieser hinsichtlich der Nachweisempfindlichkeit als überlegen erwiesen hatte. Dem Nachweisverfahren wurden die Technik von GROVE und RANDALL (1955) und KLEIN (1957) zugrundegelegt.

1. Material und Methode

a) Herstellung und Vorbereitung des Agarmediums

Als Testmedium wurde Antibiotic-Medium Nr.2 (Difco) verwendet. Das Agarmedium wurde bei 121°C 15 Minuten lang autoklaviert. Das Antibiotic-Medium 2 wurde in 21 ml-Portionen in Petrischalen abgefüllt. Die Platten wurden 15 Minuten lang im Brutschrank getrocknet, bis das Agar-Testkeimgemisch vorbereitet war. Zusätzlich wurde ein Standard I - Nähragar (Merck) bei 121°C 15 Minuten lang autoklaviert. Nach Abkühlung dieses Agars im Wasserbad auf 48°C folgte der Zusatz der Testkeimsuspension Sarcina lutea ATCC 9341. Auf 100 ml Standard I - Agar kamen 1 ml Keimsuspension. Von diesem Agar-Testkeimgemisch wurden pro Petrischale 4 ml auf das inzwischen erstarrte Antibiotic-Medium 2 pipettiert. Es ist dabei zu beachten, daß die Petrischalen waagrecht stehen. Nach einer ca. 1/2stündigen Abkühlung der so vorbereiteten

Platten im Kühlschrank bei 4°C wurden die Agarlöcher ausgestanzt. Das Ausstanzen erfolgte mit einem Korkbohrer aus rostfreiem Stahl, sodaß sechs Agarlöcher je Platte mit einem Durchmesser von 10 mm und einem Fassungsvermögen von 0,2 ml entstanden. Der Boden der Löcher wurde zur Abdichtung mit einem Tropfen Agar bedeckt. Die so präparierten Platten wurden dann mit Standard- und Testflüssigkeit beschickt und nach zweistündiger Vordiffusion bei 37°C 18 Stunden lang im Brutschrank inkubiert. Nach dieser Bebrütung wurden die Hemmhöfe ausgemessen.

b) Herstellung der Keimsuspension

Der Teststamm Sarcina lutea ATCC 9341 wurde auf Schrägagar (Standard I-Nähragar) gehalten und jede Woche überimpft. Nach 24-stündiger Bebrütung bei 26°C wurden die Kulturen bei 4°C im Kühlschrank bevorratet. Zur Bereitung der Keimsuspension wurden die Testkeime mit ca. 20 ml Nährbouillon abgeschwemmt und verdünnt. Die Dichte der Keime wurde im Eppendorf-Photometer mit Filter Hg 578 nm gemessen und auf eine 10 %ige Lichttransmission eingestellt.

c) Herstellung der Standardlösungen

Chloramphenicol wurde in sterilem Phosphatpuffer pH 6,0 (2,0 g K_2HPO_4 + 8,0 g KH_2PO_4 auf 1000 ml Aqua dest.) so gelöst, daß sich Konzentrationen von 2,3,5,10 und 20 mcg pro ml ergaben. Dazu wurden zuerst 1 g Chloramphenicol in 50 ml Propylenglycol gelöst und davon 5 ml auf 1000 ml

Pufferlösung gegeben. Man erhält so eine Stammlösung mit 100 mcg/ml. Diese Standardlösung läßt sich etwa einen Monat im Kühlschrank aufbewahren. Von den Verdünnungen mit 2,3,5,10 und 20 mcg pro ml wurden dann je 0,2 ml in die vorgesehenen Löcher pipettiert. Nach Ausmessen der Hemmzonendurchmesser konnten Standardkurven aufgestellt werden. Die Durchschnittswerte konnten auf halblogarithmisches Millimeter-Papier übertragen werden, da die Beziehungen zwischen der Konzentration der Antibiotikalösung und der Größe der Hemmhofdurchmesser logarithmischer Natur sind. Auf der Abszisse, die linear geteilt, wurden die Mittelwerte der Hemmzonendurchmesser aufgetragen, während auf der Ordinate der Antibiotikagehalt dargestellt wurde. Da die Hemmhöfe in Puffer und Serummilieu gleichgroß sind, läßt sich die Chloramphenicolkonzentration im Serum aus dem Vergleich der Hemmhofdurchmesser der Seren und der Standardkurven ablesen.

Bei Erstellung der Standardkurven zum Nachweis von Chloramphenicol im Ei und in der Galle wurde ähnlich vorgegangen. Dazu wurden die Ausgangskonzentrationen verdoppelt und im Verhältnis 1 : 1 mit Eiflüssigkeit bzw. mit Galle verdünnt. Dadurch erhielt man ebenfalls Standardwerte für 2,3,5,10 und 20 mcg/ml. Dabei ist zu bemerken, daß die Hemmhöfe beim Eierstandard kleiner als beim Serum- bzw. Pufferstandard waren, während die Standardkurven bei Galle und Serum bzw. Puffer etwa gleich waren.

d) Tiermaterial

Für die Versuche standen Hybridlegehennen sowie Hybridküken und Blausperberküken ab der vierten Lebenswoche zur Verfügung. Die Hühner wurden in Einzelkäfigen gehalten und mit Legemehl S (nach DLG-Standard) gefüttert (20 % Rohprotein, 3,5 % Fett, 12 % Asche, 7 % Rohfaser, 2,1 % Calcium, 1,0 % Phosphor, 0,24 % Natrium). Die Küken und Junghähnchen wurden in Batterien gehalten und mit Junghennen-Alleinfutter All-Mash J (14 % Rohprotein, 3,0 % Fett, 7,0 % Rohfaser, 1,0 % Calcium, 0,7 % Phosphor, 0,16 % Natrium) gefüttert. Die Applikation des Chloramphenicol erfolgte bei den Legehennen sowohl mit der Sonde als auch über das Trinkwasser. Das Trinkwasser erhielten die Tiere in Kunststoff-Stülptränken und Metalltränken, sodaß der Wasserverbrauch ermittelt werden konnte. Den Küken wurde das Chloramphenicol vorwiegend über das Trinkwasser, aber auch intramuskulär verabreicht.

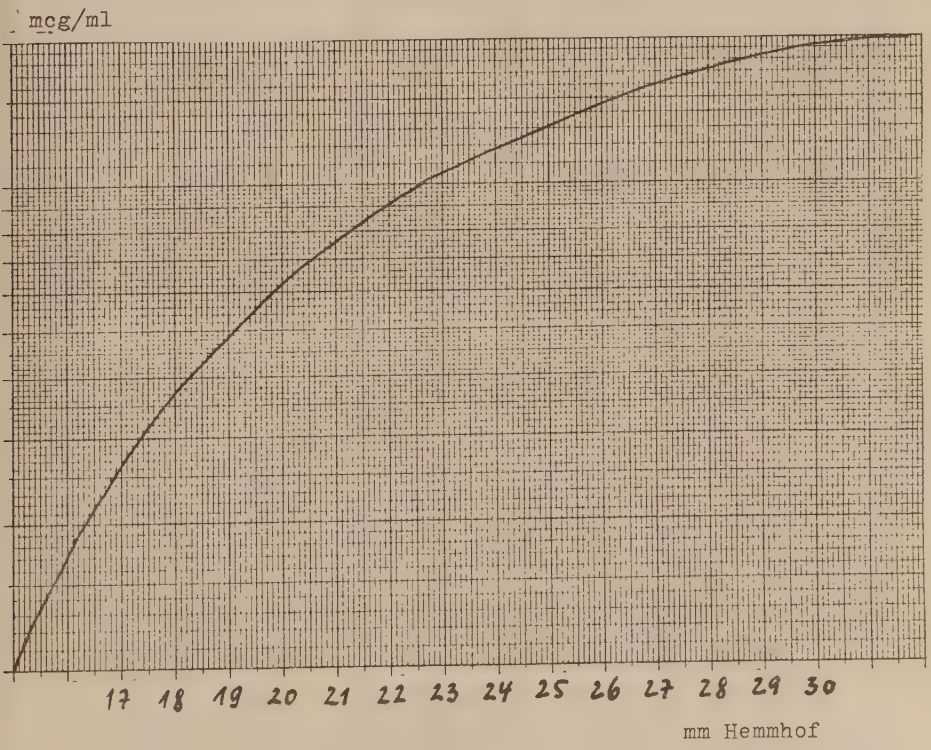
e) Chloramphenicol

Es wurde vorzugsweise mit pulverisiertem Chloramphenicolpalmitat 100 %ig ("gemahlen", "mikronisiert", "Sieb V" und "kristallisiert") und zum Teil mit Chloramphenicol-Succinat-Suspension der Firma Parke-Davis gearbeitet.

2. Ergebnisse

Aus einer Verdünnungsreihe von Chloramphenicol in Pufferlösung von 2 - 20 mcg/ml wurde die Standardkurve aus der Hemmhofgröße ermittelt. Eine Standardkurve ist in Abb. 1 dargestellt.

Abb. 1 : Beispiel einer Standardkurve für Chloramphenicol in Pufferlösung.



Versuchsreihe 1 (Versuche mit Legehennen)

a) Serumspiegel nach Verabreichung von Chloramphenicol als orale Einzelgabe mit Sonde.

Die Hühner erhielten Chloramphenicol, in je 5 ml Propylenglycol gelöst, mit einer Plastiksonde in den Kropf verabreicht. Die erreichten Blutserum-Einzelwerte sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1

Versuch Nr.	Tier Nr.	Dosis (mg/Tier)	Dosis (mg/kg KG)	Serumwerte nach Std. (mcg/ml) 1	2	5
1	1	50	30		3,5	
"	2	100	60		5	
"	3	150	90		10	
"	4	200	120		15	
2	1	100	60		5	3
"	2	100	60		5	3
"	3	100	60		10	6
3	1	100	60	8		
"	2	100	60	4		
"	3	100	60	4	4	
"	4	100	60	10	8	
4	1	100	60		7	- x)
"	2	100	60		3	-
"	3	100	60		3,5	-
"	4	100	60		5	-
5	1	150	90		30	10
"	2	150	90		13	7
"	3	150	90		18	8
"	4	150	90		20	14

x) = kein meßbarer Blutspiegel

b) Serumspiegel nach oraler Verabreichung von Chloramphenicol über das Trinkwasser über 24 Stunden bei freier Wasseraufnahme(Tabelle 2).

Tabelle 2

Versuch Nr.	Tier Nr.	Dosierung (g/l Wasser)	Dosis (mg/kg KG)	Serumwerte nach Std 2	4	5	24
6	1	1 g/l	120	-	-		- x)
"	2	"	120	-	-		5
"	3	"	120	-	-		-
"	4	"	120	-	-		-
7	1	1 g/l	150	10		5	4
"	2	"	150	10		5	3
"	3	"	150	10		6	6
"	4	"	150	10		10	6
8	1	2 g/l	235				14
"	2	"	235				5
"	3	"	235				13
"	4	"	235				10

x) = kein meßbarer Blutspiegel

Bei der Verabreichung von Chloramphenicol als Einzelgabe mit der Sonde konnte bereits mit einer Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht ein therapeutisch wirksamer Blutspiegel erzielt werden, der allerdings nur höchstens fünf Stunden lang nachweisbar ist. Mit einer Dosis von 60 - 120 mg/kg konnten bei Legehennen nach einmaliger Applikation Blutspiegel von 3 - 30 mcg/ml über einen Zeitraum von fünf Stunden erreicht werden. Mit der Trinkwasserapplikation kann man bei Hennen mit einer Dosierung von 150 mg/kg Körpergewicht Blutspiegel zwischen 5 und

10 mcg/ml Serum für die gesamte Applikationsdauer erzielen.Mit einer höheren Dosierung lassen sich die Blutspiegel nicht wesentlich steigern.

Die Blutserum-Durchschnittswerte nach Einzelgabe mit Sonde bzw. nach Verabreichung von Chloramphenicol über das Trinkwasser bei Legehennen sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3

Zeit nach Applikation	Dosis (mg/Tier)	Dosis (mg/kg KG)	Applikationsart	Serumwert (mcg/ml)
1 Std.	100	60	oral m.Sonde	8,5
2 Std.	50	30	"	3,5
"	100	60	"	5,5
"	120	75	Trinkwasser 24h	- x)
"	150	90	oral m.Sonde	20
"	200	120	"	15
"	200	120	Trinkwasser 24h	-
"	250	150	"	10
"	400	235	"	11
5 Std.	100	60	oral m. Sonde	5
"	150	90	"	10
"	250	150	Trinkwasser 24h	6
"	200	120	"	-
"	250	150	"	5
"	400	235	"	10

X) = kein meßbarer Blutspiegel

c) Der Nachweis von Chloramphenicol im Ei nach Trinkwasserbehandlung bzw. nach oraler Einzelgabe bei Legehennen.

Nach eintägiger Verabreichung von Chloramphenicol über das Trinkwasser und nach oraler Einzelgabe mit der Sonde konnte bei Legehennen am nächsten Tag im Eiklar Chloramphenicol nachgewiesen werden. In den Eiern der folgenden Tage verlief der Chloramphenicolnachweis ebenso wie in den Eiern nicht behandelter Hennen negativ. Die Eidotter waren stets negativ.

Tabelle 4 : nach Trinkwasserapplikation

Dosis/kg KG (mg)	Serumwert nach 24 Std.	Chloramphenicol-spiegelim Eiklar
150	5 mcg/ml	15 mcg/ml
235	14 mcg/ml	13 mcg/ml
235	5 mcg/ml	20 mcg/ml
235	13 mcg/ml	17 mcg/ml
235	10 mcg/ml	13 mcg/ml

Tabelle 5 : nach Einzelgabe mit Sonde

Dosis/kg KG (mg)	Serumwert nach 2 Std.	Chloramphenicol-spiegel im Eiklar
60	7 mcg/ml	25 mcg/ml
60	3 mcg/ml	- x)
60	3 mcg/ml	-
60	5 mcg/ml	25 mcg/ml
90	13 mcg/ml	13 mcg/ml
90	20 mcg/ml	13 mcg/ml

X) = kein meßbarer Spiegel

Versuchsreihe 2 (Versuche mit Küken und Junghähnchen)

a) Serumspiegel nach oraler Verabreichung über das Trinkwasser bei freier Wasseraufnahme.

Bei einer Dosis von über 150 mg/kg Körpergewicht konnten bei einer Verabreichung über 24 Stunden Blutspiegel nachgewiesen werden, die nach 2 - 4 Stunden ihren Maximalwert erreichten. Diese Spiegelwerte blieben während der gesamten Verabreichungsdauer konstant, während bereits eine Stunde nach Absetzen des Trinkwassers keine meßbaren Blutspiegel mehr nachgewiesen werden konnten. Die Serumwerte lagen bei einer Dosis von 150 - 250 mg pro kg Körpergewicht zwischen 2 und 12 mcg/ml (Grenzwerte zwischen 0 und 15 mcg/ml Serum). Eine Erhöhung der Blutspiegel durch Veränderung des Kalziumspiegels im Darm (Senkung des Ca-gehaltes im Futter und völliger Futterentzug) konnte nicht erzielt werden. Ebenso brachte die Verwndung von verschiedenen Arten von Chloramphenicol der Fa. Parke-Davis keine gravierende Veränderung der Blutspiegel. Die erreichten Serum-Durchschnittswerte sind in Tabelle 6 und 7 dargestellt. Die inkonstante Dosis/Tier und kg Körpergewicht ist durch unterschiedlichen Wasserverbrauch der Tiere bedingt.

Tabelle 6 Durchschnitts-Serumwerte nach oraler Verabreichung von Chloramphenicol über das Trinkwasser bei freier Wasseraufnahme und Fütterung mit Legemehl S bei 4 - 9 Wochen alten Küken.

Versuch Nr.	Tierzahl	Durchschnittsgewicht in Gramm	Appl.dauer in Std.	Dosis (mg/kg)	Serumwerte ...Std. nach Applikationsbeginn							
					1	2	3	4	5	6	24	X
9	5	250	28	160								4
10	5	250	5	160	-	3	6	6	5			
11	10	250	40	200								4
12	14	330	24	180		-	x)	4		8	7	
13	6	400	24	150							3	
14	7	450	24	110							-	
15	14	650	24	325		19		15		17	19	
16	8	900	3	98	-	-	-					
17	6	1000	24	150		-		-		6	12	

x) = kein meßbarer Blutspiegel

X = Serumspiegel am Ende der Verabreichung (siehe Applikationsdauer)

Tabelle 7 Durchschnitts-Serumwerte nach oraler Verabreichung von 1 g Chloramphenicol pro Liter Trinkwasser über 24 Stunden bei freier Wasseraufnahme und Fütterung mit Junghennenalleinfutter unter Berücksichtigung von verschiedenem Chloramphenicol (Parke-Davis).

Versuch Nr.	Tierzahl	Dosis (mg/kg KG)	Serumwert (mcg/ml)	Alter i. Wochen	Gewicht i.Gramm	Chloramphenicolart (Parke-Davis)
18	6	100	- x)	16	1500	mikronisiert
19	3	106	-	16	1500	mikronisiert
20	6	133	-	16	1500	Sieb V
21	6	144	2	16	1500	gemahlen
22	3	144	2	16	1500	gemahlen
23	6	150	-	16	1500	kristallisiert
24 X	10	167	3	5	300	gemahlen
25	5	200	3	5	300	gemahlen
26	5	200	4	5	300	gemahlen
27	5	200	3	5	300	mikronisiert
28	5	220	4	5	300	mikronisiert
29	5	250	8	5	300	Sieb V
30	5	250	6	5	300	kristallisiert

x) = kein meßbarer Blutspiegel

X = bei völligem Futterentzug

b) Serumspiegel nach intramuskulärer Injektion

Bei den folgenden Versuchen wurde Chloramphenicol in Propylenglycol gelöst und injiziert. Bei Küken mit einem Durchschnittsgewicht von 500 g konnten bei einer Dosis von 15 - 60 mg/kg Körpergewicht Blutspiegel von 2 - 20 mcg/ml 3 - 5 Stunden lang nachgewiesen werden. Mit einer Dosis von 135 mg/kg KG wurden Spiegelhöchstwerte von 27 mcg/ml ermittelt. Mit einer selbst hergestellten Lösung von Chloramphenicol-Palmitat (mikronisiert) konnten höhere Blutspiegel erzielt werden als mit einer handelsüblichen Chloramphenicol-Succinat-Suspension.
Die Blutspiegel nach intramuskulärer Injektion sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8 Durchschnitts-Serumwerte bei 3 - 8 Wochen alten Küken nach intramuskulärer Verabreichung von Chloramphenicol, in Propylenglycol gelöst.

Versuch Nr.	Tierzahl	Dosis (mg/Tier)	Dosis (mg/kg KG)	Serumwerte ...Std. nach Appl.beginn 1/2	1	2	3	4	5	7	8	Gewicht i.Gramm
31	6	10	33		8	5	4					300
32	20	20	135	24	24	21	16	17				150
33	6	10	20		5	2	-	-	-	-	- x)	500
"	6	20	40		7	8	2	-	-	-	-	500
"	6	30	60		18	8	7		2	-	-	500
34	4	10	15		3	-	-				-	650
"	4	20	30		5	7	3				-	650
"	4	30	45		16	10	4				-	650
"	4	40	60		20	15	9				-	650

x) = kein meßbarer Blutspiegel

c) Der Nachweis von Chloramphenicol in der Galle nach Trinkwasserbehandlung bzw. nach intramuskulärer Injektion bei Küken und Junghähnchen.

Nach der Verabreichung von Chloramphenicol über das Trinkwasser an 1500 g schwere Hähnchen konnten bei der Schlachtung nach 24 Stunden weit höhere Chloramphenicolspiegel in der Galle als im Blutserum nachgewiesen werden. Auch nach intramuskulärer Injektion bei Küken waren die Chloramphenicolspiegel in der Galle weit höher als die Serumspiegel. Außerdem waren in der Galle immer noch Hemmkonzentrationen nachzuweisen, wenn die Blutspiegel bereits unter die Nachweisgrenze gesunken waren.
Der Vergleich von Serum- und Gallekonzentrationen ist in Tabelle 9 und 10 dargestellt.

Tabelle 9 : nach Trinkwasserapplikation

Dosis (mg/kg KG)	Serumwerte nach 24 Std. (mcg/ml)	Chloramphenicolspiegel in der Galle (mcg/ml)
144	2	12
144	2	20
144	2	6
106	2	14
106	- x)	9

x) = kein meßbarer Blutspiegel

Tabelle 10 : nach intramuskulärer Injektion

Dosis mg/kg	Chloramphenicolspiegel nach ...Std.(mcg/ml)							
	1		3		5		8	
	Serum	Galle	Serum	Galle	Serum	Galle	Serum	Galle
15	3	6	- x)	8			-	5
20	5	4	-	10	-	9	-	6
30	5	20	3	7			-	7
40	7	8	2	12	-	10	-	8
45	16	14	4	12			-	8
60	19	15	8	17	2	14	-	10

x) = kein meßbarer Blutspiegel

Eine unspezifische Hemmung konnte ausgeschlossen werden, da die Galle-Leerkontrollen bei jedem Versuch negativ waren.

In den Abbildungen 2 - 7 sind die Serum- und Galle- Chloramphenicolspiegel bei unterschiedlichen Dosierungen graphisch dargestellt. In den einzelnen Graphiken ist der Zeitpunkt der Blutspiegelbestimmungen nach der Injektion unterstrichen.

Abb. 2 : Serum- und Gallespiegel zu Versuch 33
(nach 1,2,3,5,7 und 8 Std.post iniectionem)

20 mg/kg i.m.

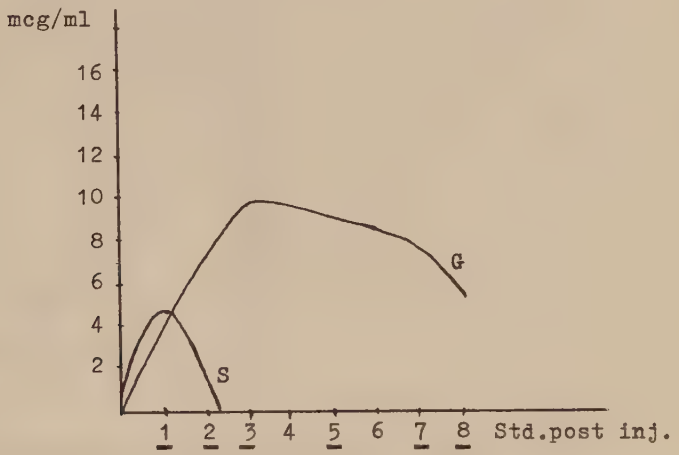


Abb. 3 :

40 mg/kg i.m.

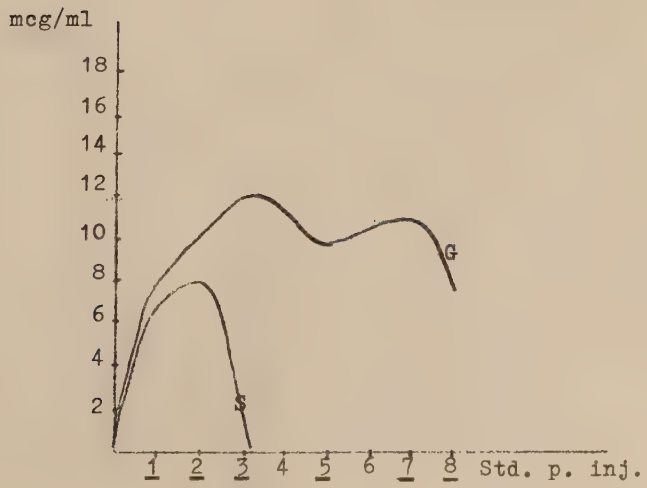


Abb. 4 :

60 mg/kg i.m.

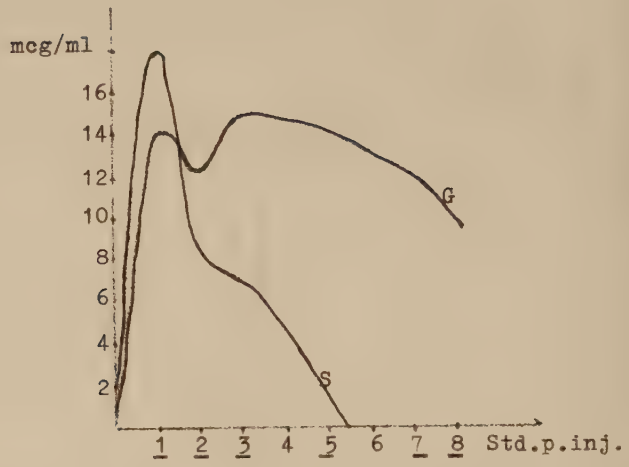


Abb. 5 : Serum- und Gallespiegel zu Versuch 34
(nach 1,2,3 und 8 Std.post iniectionem)

15 mg/kg i.m.

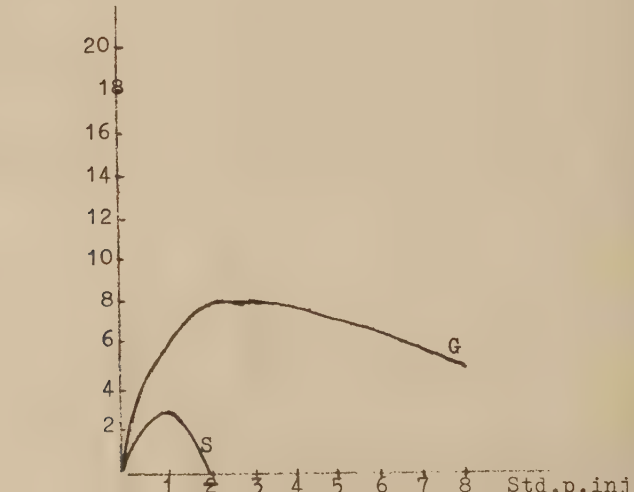


Abb. 6 :

30 mg/kg i.m.

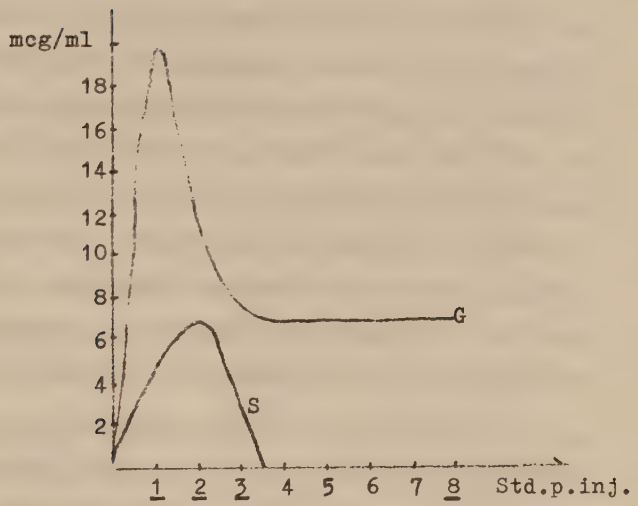
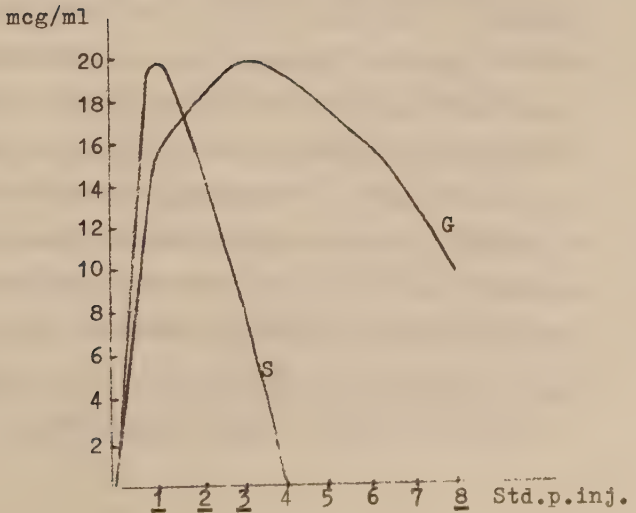


Abb. 7 :

60 mg/kg i.m.



IV. DISKUSSION

In 35 Versuchen wurde Chloramphenicol an Küken ab der vierten Woche sowie an Legehennen verabreicht. Die Applikation erfolgte bei den Hennen sowohl mit der Sonde als auch über das Trinkwasser. Den Küken wurde das Chloramphenicol vorwiegend über das Trinkwasser, aber auch intramuskulär verabreicht. Mit Hilfe eines Agar-Diffusions-Testes wurden die Serumspiegel gemessen, bei Legehennen wurde der Chloramphenicolnachweis im Ei geführt und bei den Küken die Ausscheidung über die Galle verfolgt.

Eine mikrobiologische Nachweismethode wurde verwendet, da bei der kolorimetrischen Methode die gesamten aromatischen Nitroverbindungen - also auch das inaktive Chloramphenicol-Glucuronid - erfaßt werden. Für einen zuverlässigen Nachweis des antibakteriell wirksamen Anteils ist letztere Methode deshalb nur mit Vorbehalt zu gebrauchen, da die ermittelten Werte höher liegen als beim mikrobiologischen Nachweis (WALTER, HEILMEYER, 1969). Allerdings können mit einer biologischen Methode im günstigsten Falle Hemmwerte von 1 - 3 mcg/ml erfaßt werden. Dies reicht für eine Bestimmung therapeutisch wirksamer Blutspiegel auch aus, da die unterste Nachweisgrenze des Chloramphenicols mit der normalen Hemmungsdosis vieler pathogener Erreger praktisch zusammenfällt (KLEIN, 1967).

Nach peroraler Applikation mit der Sonde konnte bereits mit einer Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht ein therapeu-

tisch wirksamer Blutspiegel von 3,5 mcg/ml erreicht werden, während nach einmaliger Applikation von 60 bis 120 mg/kg Körpergewicht Serumspiegel von 3 - 30 mcg/ml über einen Zeitraum von fünf Stunden erzielt werden konnten. Die erreichten Blutspiegel stimmen mit denen von FEIERSINGER (1955) gefundenen Werten in etwa überein. In den eigenen Untersuchungen konnten mit den oben angeführten Dosierungen Blutspiegel über keinen längeren Zeitraum als fünf Stunden nachgewiesen werden. FEIERSINGER konnte hingegen mit Dosierungen zwischen 50 und 200 mg/kg KG 6 1/2 bis 15 1/2 Stunden lang therapeutisch wirksame Serumkonzentrationen ermitteln. Dieser Unterschied in der Spiegeldauer ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß FEIERSINGER das Chloramphenicol in Gelatinekapseln verabreichte, während es in eigenen Versuchen in Propylenglycol gelöst wurde. Außerdem verwendete FEIERSINGER den Dilutionstest, während in den vorliegenden Untersuchungen der Agar-Diffusionstest zur Anwendung kam.

Die Trinkwasserapplikation ergab bei den Hennen mit einer Dosis von 150 mg/kg Körpergewicht Blutspiegel zwischen 5 und 10 mcg/ml während der gesamten Versuchsdauer. Bei einer Dosis von 235 mg/kg Körpergewicht lagen die Werte zwischen 5 und 14 mcg/ml Serum. Bei einmaliger Applikation erreichten die Blutspiegel nach 1 - 2 Stunden ihre Höchstwerte und waren nach wenigen Stunden wieder abgesunken. Mit der Verabreichung über das Trinkwasser konnte ein kontinuierlicher Blutspiegel erreicht werden.

Der Nachweis von Chloramphenicol in Eiern, die am Tage nach einer Sonden- oder Trinkwasserbehandlung gelegt wurden, war meist positiv. Es wurden dabei Werte zwischen 10 und 25 mcg/ml ermittelt. Der Nachweis in den Eidottern war stets negativ. Eine unspezifische Hemmung durch Eiweiß konnte durch Leerkontrollen ausgeschlossen werden. Bei den Küken konnten nach Trinkwasserapplikation bei einer Dosis unter 150 mg/kg Körpergewicht keine Serumspiegel ermittelt werden. Bei einer Dosis von 150 - 200 mg/kg Körpergewicht lagen die gemessenen Serumspiegel zwischen 2 und 15 mcg/ml, während mit einer Dosis von 325 mg/kg Körpergewicht Höchstwerte von 15 - 19 mcg/ml Serum erreicht werden konnten. LÖSCH (1963) konnte bei Masthähnchen nach einwöchiger Verabreichung beim Absetzen des chloramphenicolhaltigen Trinkwassers mit einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht im Serum durchschnittlich 10,8 mcg/ml nachweisen. Drei Stunden nach Absetzen des Trinkwassers war auch hier kein Nachweis mehr zu führen. Die von LÖSCH gefundenen Blutspiegel schon bei 100 mg/kg Körpergewicht sind offenbar auf die insgesamt achttägige Dauerverabreichung zurückzuführen.

Junge Tiere scheinen nach den eigenen Versuchsergebnissen mehr Chloramphenicol pro kg Körpergewicht aufnehmen zu müssen, um die gleichen Serumspiegel zu erreichen wie ältere Tiere.

In vergleichenden Untersuchungen wurden Blutspiegelbestimmungen mit verschiedenen Chloramphenicolen durchgeführt. Dazu wurden Chloramphenicol "gemahlen", "Sieb V", "kristallisiert" und "mikronisiert" der Fa. Parke-Davis verwendet. Es handelte sich dabei um Chloramphenicole gleichen Ursprungs, jedoch unterschiedlicher physikalischer Beschaffenheit. Mit Chloramphenicol "mikronisiert" wurden sowohl bei der Trinkwasserapplikation als auch bei intramuskulärer Injektion die durchschnittlich höchsten Blutspiegel erreicht.

Nach intramuskulärer Injektion von 15 -60 mg Chloramphenicol pro kg Körpergewicht konnten 2 - 20 mcg/ml Serum nachgewiesen werden. Bei einer Dosis von 135 mg/kg KG wurden zwischen 13 und 27 mcg/ml, mit einem Höchstwert nach einer halben Stunde, ermittelt. Daraus ist ersichtlich, daß bei oraler Applikation weit höhere Dosen Chloramphenicol nötig sind, um dieselben Blutspiegel zu erzielen wie nach intamuskulärer Injektion. Hingegen beobachteten BURNELL und KIRBY (1951) bei oraler und intramuskulärer Applikation gleiche Resorptionseffekte.

Sowohl nach Trinkwasserapplikation als auch nach intramuskulärer Injektion können in der Gallenflüssigkeit hohe Chloramphenicolspiegel nachgewiesen werden. Sie übersteigen die Blutspiegelwerte in Höhe und Nachweisdauer. So konnte gezeigt werden, daß zu einem Zeitpunkt minimaler Serumwerte in der Galle noch Konzentrationen bis zu 20 mcg/ml nachzuweisen sind. Dies steht im Gegen-

satz zu den Erfahrungen beim Menschen. So fanden z.B. WOODWARD et al. (1950) nach oraler Verabreichung in der Galle Spitzenwerte von 30 mcg/ml bei einem entsprechenden Serumwert von 80 mcg/ml. Die Serumkonzentrationen lassen vermuten, daß auch in anderen Organen Hemmstoffkonzentrationen nachgewiesen werden können. Dies ist unter Berücksichtigung der bisher von zahlreichen Autoren geführten positiven Hemmstoffnachweise bei Schlachttieren und der Gefahren für den Menschen durch Verzehr von antibiotikahaltigen Lebensmitteln von Bedeutung (SCHEIBNER, 1969).

Die Ausscheidung von Chloramphenicol über die Eier stellt beim oft ungezielten, jedoch auch therapeutischen Einsatz der Antibiotika ein erhebliches Rückstandsproblem dar. So konnten z.B. selbst bei niedrigen Serumwerten um 5 mcg/ml in den Eiern Chloramphenicolkonzentrationen bis zu 25 mcg/ml Eiklar nachgewiesen werden. Besonders bei Neugeborenen können nach Chloramphenicol und Sulfonamiden schwere toxische Erscheinungen und Todesfälle vorkommen (KUSCHINSKY, LÜLLMANN, 1966). Die hohe Toxizität von Chloramphenicol bei Neugeborenen ist die Folge einer verzögerten Ausscheidung dieser Substanz im Harn. Außerdem ist es möglich, daß Spuren von Chloramphenicol, die mit der hier angewandten Nachweismethode nicht mehr erfaßt werden können, zu Allergien und Resistenzerscheinungen führen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. In 35 Versuchen wurden die Serumspiegel nach oraler und intramuskulärer Applikation von Chloramphenicol bei Legehennen und Küken mit Hilfe eines Agar-Diffusionstestes mit Sarcina lutea ATCC 9341 als Testkeim untersucht.

2. Nach peroraler Verabreichung einer Einzeldosis von 30 mg/kg Körpergewicht mit der Sonde konnte bei Hennen bereits ein therapeutisch wirksamer Blutspiegel erreicht werden.

3. Nach Verabreichung von Chloramphenicol über das Trinkwasser konnten bei Legehennen mit einer Dosis von 150 mg/kg Körpergewicht Serumspiegel zwischen 5 und 10 mcg/ml erzielt werden.

4. Nach Chloramphenicolbehandlungen von Legehennen wurden in den Eiern Konzentrationen bis zu 25 mcg/ml Eiklar nachgewiesen.

5. Bei Küken und Junghähnen konnten nach Trinkwasserbehandlung mit einer Dosis unter 150 mg/kg Körpergewicht keine Serumspiegel ermittelt werden. Bei einer Dosis von 150 - 250 mg/kg Körpergewicht lagen die gemessenen Serumspiegel zwischen 2 und 15 mcg/ml.

6. Nach intramuskulärer Injektion von 15 - 60 mg Chloramphenicol pro kg Körpergewicht konnten bei Küken 2 - 20 mcg/ml Serum nachgewiesen werden.

7. Sowohl nach Trinkwasserapplikation als auch nach intramuskulärer Injektion treten in der Galle hohe Konzentrationen auf. Diese Werte übersteigen die Serumspiegel in Höhe und Nachweisdauer erheblich.

V. SUMMARY

1. In 35 tests, the serum levels were tested of the oral and intramuscular application of chloramphenicol in laying hens and chickens with the aid of an agar diffusion test with Sarcina lutea ATCC 9341 as test seed.

2. After peroral dispensing of a single dose of 30 milligrams per one kilogram of bodily weight by the probe it was already possible to achieve a therapeutically active blood level in hens.

3. After dispensing of chloramphenicol via the drinking-water it was possible to achieve serum levels between 5 and 10 mcg/ml in laying hens by a dose of 150 mg/kg bodily weight.

4. After chloramphenicol treatments of laying hens, concentrations up to 25 mcg/ml albuminoid could be proved.

5. In chickens and cockerels, after treatment with drinking-water with a dose below 150 mg/kg bodily weight, it was impossible to ascertain any serum levels. With a dose of 150 - 250 mg/kg bodily weight, the tested serum levels were between 2 and 15 mcg/ml.

6. After intramuscular injection of 15 - 60 mg chloramphenicol per kilogram bodily weight, it was possible to ascertain 2 - 20 mcg/ml serum in chickens.

7. After drinking-water application as well as after intramuscular injection, high concentrations occur in the gall. These values exceed the serum levels considerably as regards height and duration of proof.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

BENDER, I.B., et al.: J. Dent. Res. 32, 289 (1953)
BERNFIELD, P. und INGLIS, N.R.: Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 2, 94 (1956)
BLISS, E.A. und TODD, H.P.: J. Bacteriol. 58, 61 (1949)
BLOOMFIELD, A.: A.M.A. Int. Med. 88, 135 (1951)
BOROLOSSY, El, A.W.: Lancet 928 (1953)
BROOK, A.H. und PARIS, R.: Austr. Vet. J. 32, 69 (1956)
BRÜGGEMANN, J. und MERKENSCHLAGER, M.: Zentralblatt f. Vet.Med., Reihe B, Band 10, Heft 7, 631
BRUNNER, R. und MACHEK, G.: Die Antibiotika. (1965)
BURKHOLDER, P.R.: J.Bacteriol. 56, 467 (1948)
BURNELL, J.M. und KIRBY, W.M.: J. Lab. Clin. Med. 38, 234 (1951)
CONCILIO, C. und TRIVELLATO, E.: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 34, 49 (1958)
EADS, F.E. etal.: Vet. Res. 13, 204 (1952)
EADS, F.E. und van NOCKER, K.D.: Californ. Vet. 8, 4 (1955)
EHRLICH, J. et al.: Science 106, 417 (1947)
ENGLISH, P.B. und WITHY, D.: Austral. Vet J. 35, 187 (1959)
ETTLINGER, L.: Antibiotics Chemother. 4, 46 (1957)
FAUSTINI, R.: Clinica Vet. 73, 99 (1950)
FEIERSINGER, J.G.: Vet.Diss., Wien (1955)
FINLAND, M. und WEINSTEIN, L.: New England J.Med. 248, 220 (1953)
FRITZSCHE, K.: Berl. Münchn. Tierärztl. Wschr. 67, 26 (1954)
FRITZSCHE, K.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 63, 11 (1956)
FRITZSCHE, K. et al.: Berl. Münchn. Tierärztl. Wschr. 69, 61 (1956)
GALE, E.F. und FOLKES, J.P.: Biochem.J. 53, 493 (1953)
GALE, E.F. und FOLKES, J.P.: Biochem.J. 55, 721,730 (1953)
GALE ,E.F. et al.: J.P. Biochem.J. 59, 661 (1955)
GALE ,E.F.: Brit. Med. Bull. 16, 11 (1960)
GERRIETS, E. und BOBSIEN, R.: Mh. Vet. Med. 11, 11 (1956)
GERRIETS, E.: Mh. Vet. Med. 12, 75 (1957)
GERRIETS, E.: Dtsch. tierärztl Wschr. 65, 114 (1958)

GILL, P.F.: Australia Med. J. 1, 768 (1950)
GLAZKO, A.J. et al.: J. Pharmacol. Expt. Ther. 96, 445 (1949)
GLAZKO, A.J. et al.: J. biol. Chem. 183, 679 (1950)
GLAZKO, A.J. et al.: J.Pharmacol. Expt. Ther. 104, 452 (1952)
GRAY, J.D.: Canad. M. A. J. 72, 778 (1955)
GRATZL, E. und JAKSCH, W.: Jb. österr. Tierarzt, Wien 77, (1960)
GREUEL, E.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 62, 315 (1955)
GROVE, D.C. und RANDALL, W.A.: Assay methods of Antibiotics, Medical Encyclopedia, Inc., New York (1955)
GRUHZIT, O.M.: J. Clin. Invest. 28, 943 (1949)
GRUMBLES, L.C. und BONEY, W.A.: J. Amer. Vet. Med. Ass. 119, 284 (1951)
HAHN, F.E. et al: J. Bacteriol. 69. 215 (1955)
HAHN, F.E. et al.: Antibiotics Chemother. 6, 531 (1956)
HAUSER, K.W.: Vortrag, referiert in Berl. Münchn. tierärztl. Wschr. 72, 492 (1959)
HIRSCH, F.G.: US Navy Med. Bull. 49, 1081 (1949)
HOAGLAND, M.B.: Proceedings IV. Int. Congress of Bio chemistry 8, 199 London (1959)
JAWETZ, E.: A. M. A. Int. Med. 90, 301 (1952)
KIRSNER, J.B. et al.: Arch. Int. Med. 90, 677 (1952)
KLEIN, P.: Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen Laboratoriumspraxis, Springer-Verlag (1957)
KRAFT, H.: Tierärztl. Umschau 15, 58 (1950)
KRAFT, H.: Tierärztl. Umschau 17, 278 (1962)
KUNDRAT, W.: Zeitschrift f. analyt. Chemie 243, 624 (1968)
KUSCHINSKY, G. und LÜLLMANN, H.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, 277, (1966)
LEWIS, C.N. et al.: Antibiotics Chemoth. 2, 601 (1952)
LONG, L.M. und TROUTMAN, H.D.: J. Amer. Chem Soc. 71, 2469, 2473 (1949)
LOOVEREN, van, L.J.: Arch. Tierhk. 100, 459, Schweiz (1958)
LÖSCH, U.: Persönliche Mitteilung (1963),(1970)
MAGNANI, G.: Clinica Vet. 80, 257 (1957)
MARINO, A.: Arch. Ital. Sci. farmacol. 8, 334 (1958)
MARMION, D.E.: Trans.Roy.Soc. Trop.Med.Hyg. 46, 619 (1952)

MAZUREK, C.: Ann. Inst, Pasteur. 79, 905 (1950) .
MEYER-JONES, L.: Vet. Pharm. Ther., 2.Aufl., Jowa, (1957)
MONREAL, G.: Tierärztl. Umschau 11, 261 (1956)
Olive, Th.: Chem. Engl. 56, 107 (1949)
ONDERSCHEKA, K. und JAKSCH, W.: Wien. tierärztl. Wschr. 52, 837 (1965)
PARDEE, A.B. und PRESTIDGE, L.S.: Bacteriol. 71, 677 (1956)
PAYNE, H.M. et al.: Antibiotics Annual 559, New York (1956/57)
PULVERTAFT, R.J.: J. Path. Bacteriol. 64, 75 (1952)
REUTNER, T.F. et al.: Antibiotics Chemoth. 5, 679 (1955)
RICH M.L. et al.: Ann. Int. Med. 33, 1459, (1950)
RICHEY, D.J. und MORGAN, Ch.L.: Poultry Sci. 36, 536 (1957)
ROBINSON, R.C. et al.: Ann.J.Syph.Go.Ven.Dis. 33,509 (1949)
RODAMSKY, J.L.: Federat. Proc. 12, 358 (1953)
ROY, T.E. et al.: Antibiotics Chemother. 2, 505 (1952)
SCHIRMER, R.G. et al.: Vet. Med. 46, 485 (1951)
SCHEIBNER : Mh. Vet.Med. 24, 739 (1969)
SMADEL, J.E. und JACKSON, E.B.: Science 106, 418 (1947)
SMADEL, J.E.: J. A. M. A. 142, 315 (1950)
SMITH, R.M. et al.: J. Bacteriol. 55, 425 (1948)
SÖGSTROP, H.H.: Tierärztl. Umschau 11, 257 (1956)
SPIERS, A.L.: Brit. J. Pharmacol. 9, 59 (1954)
STETTNER, W.: Vet. Diss., Wien (1955)
SWENDSEID, M.E.: Proc. Soc.Expt.Biol.Med. 80, 689 (1952)
VOUREKA, A.: Lancet 1, 27 (1951)
WALTER, A.M. und HEILMEYER, L.: Antibiotica-Fibel, 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969)
WILLIAMS, B. und DART, R.M.: Boston Med. Quart. 1, 7 (1950)
WISSEMAN, C.L. et al.: J. Bacteriol. 67, 662, 666 (1953)
WOODARD, W.A.: J. Pharmacol. 4, 1009 (1952)
WOODWARD, T.E. et al.: J. Clin. Invest. 29, 87 (1950)
WRIGHT, S. et al: J. Lab. Clin. Med. 42, 877 (1953)

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich Herrn Priv.Doz. Dr. P. Dorn für die freundliche Überlassung des Themas, die wertvollen Anregungen und die allzeit gewährte Unterstützung danken.

Herrn Dr. R. Weber möchte ich besonders herzlich für die wichtigen Hinweise und die jederzeit gewährte Hilfe danken.

Auch allen Mitarbeitern des Geflügelgesundheitsdienstes gilt mein Dank für ihre stete Hilfsbereitschaft.

LEBENSLAUF

Am 30. Mai 1946 wurde ich, Peter Jäger, als Sohn des techn. DB - Beamten Georg Jäger und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Schäfer, in München geboren.

Ich besuchte die Volksschule am Winthirplatz und anschließend die Rupprecht-Oberrealschule bis zur sechsten Klasse. Wegen Umzugs von München nach Heufeldmühle bei Bad Aibling besuchte ich von der siebten bis zur neunten Klasse das mathematisch-naturwissenschaftliche Finsterwalder-Gymnasium in Rosenheim, wo ich 1966 mein Abitur machte.

Im WS 1966 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Hier bestand ich nach einem Studium von neun Semestern im September 1971 die Tierärztliche Prüfung. Seitdem bin ich beim Tiergesundheitsdienst Bayern, Fachabteilung Geflügel und Pelztiere, tätig.